UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II
Unités d'Enseignement et de Recherche
des Sciences médicales et pharmaceutiques

Année 1972 - Thèse N° 156

Recherches sérologiques systématiques en matière d'Aspergillose pulmonaire

(Étude portant sur une tranche de population considérée comme cliniquement et radiologiquement indemne)

Thèse pour le Doctorat en Médecine

présentée et soutenue publiquement

le Vendredi 6 Octobre 1972

par Jacques RICHARD
Élève de l'École du Service de Santé des Armées - Bordeaux
Diplômé de Médecine Tropicale
Diplômé de Médecine Aéronautique
né le 18 Avril 1946 à SARREGUEMINES (Moselle)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. R. MANDOUL, Professeur . . . . . Président

M. P. LAUMONIER, Professeur . . . . . }
M. P. FRÉOUR, Professeur . . . . . } Juges
M. R. TESSIER, Professeur . . . . . }

Éditions Bergeret, 2, rue Bergeret - BORDEAUX
— Tél. 91.12.59 —

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547320_0011

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX II
Unités d'Enseignement et de Recherche
des Sciences médicales et pharmaceutiques

Année 1972 - Thèse N° 156

Recherches sérologiques systématiques en matière d'Aspergillose pulmonaire

(Étude portant sur une tranche de population considérée comme cliniquement et radiologiquement indemne)

Thèse pour le Doctorat en Médecine

présentée et soutenue publiquement
le Vendredi 6 Octobre 1972

par Jacques RICHARD
Élève de l'École du Service de Santé des Armées - Bordeaux
Diplômé de Médecine Tropicale
Diplômé de Médecine Aéronautique
né le 18 Avril 1946 à SARREGUEMINES (Moselle)

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. R. MANDOUL, Professeur . . . . . Président

M. P. LAUMONIER, Professeur . . . . . }
M. P. FRÉOUR, Professeur . . . . . } Juges
M. R. TESSIER, Professeur . . . . . }

Éditions Bergeret, 2, rue Bergeret - BORDEAUX
— Tél. 91.12.59 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MON PERE,Médecin en Chef de 2ème classe (C.R.)

Bien qu'ayant souffert de son absence au cours de ses campagnes lointaines, j'ai suivi son sillage. Il ne m'en a pas dissuadé, dans l'intérêt même de ma formation médicale et de mes aspirations personnelles.

Je l'en remercie.

A MA MERE,

Je lui dois tant. Seule, elle a guidé mes premiers pas, mes premières études, avec un infini amour , une infinie tendresse.
Je pense qu'elle est heureuse maintenant.

Je l'en remercie.

A MON EPOUSE,

Avec patience et minutie elle m'a secondé lors de la rédaction de ce travail.

Je l'en remercie, et lui dédie cette thèse avec toute ma tendresse.

A MES GRAND-PARENTS,

Avec toute mon affection.

A MES BEAUX-PARENTS,

En témoignage de mon filial attachement.

A MA SŒUR et A MON BEAU-FRERE,

A celle qui fut la compagne et la confidente de ma jeunesse, à celui qui est devenu mon meilleur ami.

AUX MIENS et A TOUS MES AMIS

A Monsieur le Médecin en Chef de 2ème classe J. MEUNIER

Spécialiste des Hôpitaux des Armées
Chef du Service O.R.L. de l'Hôpital d'Instruction des Armées R. Picqué

Vous nous avez accueilli avec bienveillance dans votre service et nous vous exprimons toute notre gratitude pour l'enseignement que vous nous avez dispensé.

A Monsieur le Docteur V. VEYRET

Chef de Travaux pratiques de Médecine Tropicale

A Monsieur le Docteur R. LAMBOURG

Avec tous nos remerciements.

A Monsieur le Médecin de 1ère classe M. SALAUN

Assistant des Hôpitaux des Armées

Vous nous avez donné le goût du travail en laboratoire, vous avez guidé nos premiers pas dans ce domaine et entretenu notre vocation, puisse ce travail être le témoignage de notre reconnaissance.

A Monsieur le Docteur C. MOULINIER

Chef de travaux pratiques au Laboratoire de Zoologie et Parasitologie de la Faculté

Vous nous avez inspiré cette thèse. Vous nous avez initié avec la plus grande bienveillance et affabilité, aux différentes techniques du diagnostic parasitologique. Vous nous avez communiqué votre enthousiasme pour le travail de laboratoire et toujours prodigué vos encouragements.

Soyez-en vivement remercié.

A Monsieur le Docteur M. LAHOURCADE

Chef de travaux pratiques au Laboratoire de Zoologie et Parasitologie de la Faculté

dont les travaux m'ont été d'une aide précieuse.

A Madame M.C. FAVREAU et A Monsieur B. COUPRIE

Attachés-Assistants au Laboratoire de Zoologie et Parasitologie de la Faculté

Que nous remercions de leur collaboration technique à ce travail.

A TOUTE L'EQUIPE DU LABORATOIRE DE ZOOLOGIE ET PARASITOLOGIE

A Monsieur le Docteur B. BASTIN,

dont la thèse a ouvert les voies à notre propre travail.

A Monsieur le Docteur Y. MARC

Directeur du Laboratoire d'Analyses de la Caisse Régionale d'Assurances Maladie d'Aquitaine

Qui nous a aimablement confié un grand nombre de sérums.

A TOUS NOS MAITRES

DE LA FACULTE ET DES HOPITAUX

et en particulier,

A Monsieur le Professeur MORETTI

Professeur de Clinique médicale propédeutique
et Médecine tropicale
Médecin des Hôpitaux, Chef de Service
Médecin des Hôpitaux maritimes
Officier de la Légion d'Honneur
Croix de Guerre 1939-1945
Officier des Palmes académiques
Chevalier du Mérite maritime
Chevalier de l'Etoile d'Anjouan
Mérite de l'Afrique Noire

Qui a bien voulu nous confier des responsabilités au sein de son Laboratoire.

A Monsieur le Médecin Général de 2ème classe CURET

Spécialiste des Hôpitaux des Armées
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier de l'Ordre National du Mérite
Croix de Guerre 1939-1945
Directeur de l'Ecole du Service de Santé des Armées

En hommage respectueux

A Monsieur le Médecin en Chef de 1ère classe GAVARRINO

Chevalier de la Légion d'Honneur
Chevalier de l'Ordre National du Mérite
Croix de la Valeur militaire
Sous-Directeur de l'Ecole du Service de Santé des Armées

Avec l'expression de notre respectueuse considération.

A TOUS NOS MAITRES ET CHEFS

de l'Ecole du Service de Santé des Armées

et en particulier,

A Monsieur le Médecin en Chef de 1ère classe

J. LESTAGE

Médecin-Chef de l'Hôpital d'Instruction des Armées Sainte-Anne à Toulon

Qui a toujours manifesté la plus grande compréhension à notre égard.

A NOS JUGES

Monsieur le Professeur R. TESSIER

Professeur sans Chaire de Pneumo-phtisiologie
Médecin des Hôpitaux, Chef de Service
Chevalier de l'Ordre national du Mérite
Croix de Guerre 1939-1945
Chevalier des Palmes académiques

Vous nous avez toujours accueilli avec bienveillance, et vous nous faites aujourd'hui le très grand honneur de siéger à notre Jury de thèse.
Nous vous en remercions infiniment.

Monsieur le Professeur P. FREOUR

Professeur d'Hygiène et de Clinique de Pneumo-phtisiologie
Médecin des Hôpitaux, Chef de Service
Membre de la Commission de la Tuberculose au Conseil supérieur d'Hygiène sociale
Expert de l'Organisation Mondiale de la Santé
Chevalier de l'Ordre national du Mérite
Officier des Palmes académiques
Chevalier de la Santé publique
Chevalier de l'Ordre national du Sénégal

Lors de notre stage dans votre service, nous avons eu la chance de pouvoir suivre votre enseignement clinique. Vous nous avez appris la rigueur de l'observation et la clarté de l'expression. Vous avez accepté de juger ce travail, nous vous en sommes profondément reconnaissant.

Monsieur le Professeur P. LAUMONIER

Professeur de Clinique chirurgicale pleuro-pulmonaire
Chirurgien des Hôpitaux, Chef de Service
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier des Palmes académiques
Chevalier de la Santé publique
Médaille de Vermeil du Service de Santé de la Marine
Membre de l'Académie des Sciences et Belles Lettres

Vous avez fort aimablement accepté
de juger ce travail.
Nous vous exprimons toute notre
déférente gratitude.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur R. MANDOUL

Professeur de Zoologie et Parasitologie
Biologiste des Hôpitaux, Chef de Service (Parasitologie)
Chevalier de l'Ordre national du Mérite
Officier des Palmes académiques
Officier du Mérite sportif
Médaille de l'Instruction publique
Médaille d'Or de l'Education physique et des Sports

Vous avez bien voulu nous accorder votre confiance en nous permettant d'entreprendre cette étude.
Vous nous avez fait adopter au sein de votre équipe, et ainsi nous avons pu acquérir auprès de vous la rigueur d'esprit nécessaire à tout travail de laboratoire.
Vous avez encouragé notre goût pour la recherche et, par là-même, stimulé nos aspirations personnelles.

Puisse ce travail être le témoignage de notre extrême reconnaissance et de notre infinie gratitude.

RECHERCHES SEROLOGIQUES SYSTEMATIQUES EN MATIERE D'ASPERGILLOSE PULMONAIRE

(Etude portant sur une tranche de population considérée comme cliniquement et radiologiquement indemne)

S O M M A I R E

Pages

INTRODUCTION 3

PREAMBULE 7

CHAPITRE I. RAPPELS A PROPOS DE L'ASPERGILLOSE PULMONAIRE 8

I. APPROCHE ETIOLOGIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE 9

II. APPROCHE CLINIQUE 12

CHAPITRE II. LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE L'ASPERGILLOSE PULMONAIRE..... 16

I. HISTORIQUE ET APERCU DES TRAVAUX REALISES DANS L'ETUDE DU DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE L'ASPERGILLOSE 18

II. REALISATION PRATIQUE AU SEIN DE NOTRE LABORATOIRE 22

CHAPITRE III. NOTRE ENQUETE PERSONNELLE ET SES RESULTATS 28

I. MODALITES DE LA REALISATION DE L'ENQUETE SEROLOGIQUE 28

II. RESULTATS DE L'ENQUETE SEROLOGIQUE 30

III. COMMENTAIRES ET CONCLUSIONS 31

RESUME 35

BIBLIOGRAPHIE 37

I N T R O D U C T I O N

Depuis 1968, le diagnostic immunologique de l'aspergillose est réalisé à Bordeaux,au sein du laboratoire de Monsieur le Professeur R. MANDOUL.

Le nombre des analyses pratiquées dans ce domaine s'est progressivement accru au cours des années écoulées, et, de locales,les demandes sont devenues régionales. Ainsi en témoignent ces chiffres :

- 1968 : 72 sérums étudiés
- 1969 : 106 sérums étudiés
- 1970 : 580 sérums étudiés

Ces recherches concernaient alors le sérum de sujets suspects de présenter cliniquement ou radiologiquement une aspergillose pulmonaire. La preuve immunologique de cette affection fut apportée 11 fois en 1968, 15 en 1969 et 24 fois en 1970.

Par la suite, une enquête systématique pratiquée auprès des établissements de cure de Cambo et Clairvive devait permettre de découvrir quelques cas jusqu'alors méconnus.

Depuis un peu plus d'un an, nous avons élargi notre champ de prospection en nous intéressant à l'état sérologique d'une tranche de la population saine.

En effet, jusqu'alors, les enquêtes ne s'appliquaient qu'à des sujets séjournant en sanatorium (3,36) ou déjà porteurs d'affections pulmonaires les prédisposant au développement de l'*Aspergillus fumigatus* au niveau de l'appareil respiratoire.

C'est ainsi que GERNEZ-RIEUX (36) démontra que sur 90 malades porteurs d'une tuberculose cavitaire évolutive depuis 2 ans, 8 examens immuno-électrophorétiques ont révélé l'existence de 2 à 6 arcs de précipitation, ceci sans signes clinique ou radiologique d'appel.

D'autre part des auteurs montpelliérains(97) ont étudié un groupe de 100 sujets atteints de tuberculose pulmonaire et un autre groupe de 100 autres malades atteints de broncho-pneumopathies chroniques. Pour aucun de ces malades n'existait la présomption d'une aspergillose. L'immuno-électrophorèse a été trois fois positive chez les tuberculeux et constamment négative chez les autres malades.

Une enquête sur sujets sains s'est avérée nécessaire à la lumière des précédents résultats, et de plus, tout examen de laboratoire ne peut et ne doit pas être

interprété dans l'absolu. En effet, il faut le considérer en fonction de données cliniques, lorsqu'elles existent, ou par rapport à une base de référence, d'où l'intérêt que nous portons à l'état sérologique de la population saine en matière d'aspergillose.

C'est cette base de référence que nous avons voulu donner en réalisant ce travail. Ainsi nous pensons contribuer autant que possible à une meilleure et plus précise interprétation du diagnostic immunologique.

Pour ce faire, nous avons dû dans un premier temps réunir un grand nombre de sérums humains, soit environ 500, répartis de la façon suivante :

- 250 sérums d'hommes et de femmes d'âge supérieur à 30ans,
- 125 sérums de femmes d'âge inférieur à 30 ans,
- 125 sérums d'hommes d'âge inférieur à 30 ans.

Nous nous sommes adressés au laboratoire d'analyses de la Caisse Régionale d'Assurance Maladie d'Aquitaine, 30, avenue Charles de Gaulle à Caudéran qui fort aimablement a bien voulu nous confier un nombre important de sérums. D'autre part, les services médicaux de l'Ecole du Service de Santé des Armées nous ont fourni un lot appréciable de sérums provenant de leurs élèves.

Puis nous avons commencé à entreprendre l'étude immunologique proprement dite, codifiée selon la technique des Maîtres de la faculté de médecine de Lille et introduite dans notre laboratoire par Monsieur le Docteur B. BASTIN (3).

La thèse que nous présentons aujourd'hui nous a permis de découvrir la vie du laboratoire de zoologie et parasitologie et d'y participer activement. Les longues heures passées à la réalisation pratique de cette enquête, à la résolution de certains problèmes techniques resteront pour nous une expérience inoubliable, riche en enseignements de toute sorte : minutie, précision, ordre.

Nous tenons à remercier tout particulièrement Monsieur le Professeur R. MANDOUL qui nous a accordé sa confiance pour entreprendre ce travail et a mis à notre disposition tout le matériel nécessaire.

Nos remerciements vont aussi à Monsieur le Docteur Cl. MOULINIER qui nous a inspiré ce travail et nous a initié à la technique du diagnostic immunologique de l'aspergillose.

Puisse cette thèse être le témoignage de notre profonde reconnaissance envers notre Maître et toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

P R E A M B U L E

Le but de notre travail n'était pas de réaliser une étude exhaustive des différents aspects cliniques de l'aspergillose ni de son diagnostic, mais néanmoins des rappels étaient nécessaires.

C'est pour cette raison que dans un premier chapitre nous tenterons de faire une approche étiologique, épidémiologique et clinique de cette affection.

Dans un second chapitre, nous étudierons les modalités du diagnostic immunologique dans son principe et sa réalisation.

Enfin, le troisième chapitre sera consacré à notre enquête systématique et à l'exploitation de ses résultats.

Chapitre I

RAPPELS A PROPOS DE L'ASPERGILLOSE PULMONAIRE

L'aspergillose est de loin la mycose pulmonaire la plus répandue dans nos régions, mais ce n'est pas cette répartition qui, à elle seule confère à cette affection l'importance qu'elle a en pathologie humaine.

En effet l'intérêt que suscite l'aspergillose pulmonaire est dû, d'une part au fait que sa fréquence a augmenté depuis ces 10 dernières années (pour des raisons que nous exposerons plus loin), d'autre part aux modalités immunologiques de son diagnostic qui permettent ainsi la découverte précoce d'une atteinte latente.

I. APPROCHE ETIOLOGIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE.

1. L'AGENT.

L'aspergillose, mycose pulmonaire , est due au développement pathologique d'un champignon, *Aspergillus fumigatus* (FRESENIUS - 1850) en général, au niveau d'un point de l'appareil respiratoire : parenchyme, bronche, plèvre.

Le genre *aspergillus* constitue un groupe de champignons filamenteux très répandus dans la nature. On le trouve surtout au niveau de matières organiques en décomposition : vieux cuirs, fourrages, graines de céréales. Bien qu'on ait dénombré 300 espèces d'*Aspergillus*, il faut savoir que seules 4 à 5 d'entre elles sont douées d'un pouvoir pathogène pour l'homme et les animaux. Parmi elles, *A. fumigatus* joue un rôle prépondérant en raison, semble-t-il, d'une part de son abondance dans la nature, et d'autre part de son caractère thermophile qui lui permet de passer facilement de l'état saprophyte à l'état parasitaire. Viennent ensuite *A. nidulans*, *A. niger*, *A. flavus* et *A. terreus* qui sont beaucoup plus rarement en cause.

2. *MODE DE CONTAMINATION ET IMPORTANCE DES MOYENS DE DEFENSE DE L'APPAREIL BRONCHO-ALVEOLAIRE.*

Il est bien connu que la contamination d'origine tellurique se fait par les voies aériennes. Ainsi, étant donné le caractère ubiquitaire de l'aspergillus chacun d'entre nous inhale quotidiennement des centaines de spores sans pour cela contracter une aspergillose. Ceci s'explique grâce à l'intervention des processus de défense de l'appareil broncho-alvéolaire. En effet au niveau des alvéoles les spores sont neutralisées par les macrophages, dont le pouvoir phagocytaire est élevé, et évacuées avec le mucus qui joue le rôle de piège.

C'est pourquoi, toutes les causes qui viseront à détériorer le mécanisme d'épuration bronchique tendront à faciliter l'implantation puis la germination de spores aspergillaires (47). Ainsi, les traitements à base de corticoïdes ou d'anti-mitotiques (49, 86, 87, 105) en diminuant l'activité des macrophages, peuvent contribuer à l'installation d'une greffe aspergillaire.

D'autre part, les traitements antibiotiques des affections respiratoires, en détergeant des lésions suppriment l'antagonisme modérateur qui existe entre les agents bactériens et les champignons qui peuvent alors se développer (66, 67, 68, 83).

3. ROLE DU TERRAIN.

L'aspergillose pulmonaire est à l'heure actuelle considérée comme une complication d'un état pathologique antérieur (66).

Nous n'en voulons pour preuve que les exemples précis donnés par B. BASTIN dans sa thèse (3) concernant les différentes formes cliniques de la maladie :

- *L'aspergillome broncho-pulmonaire:* la greffe aspergillaire se fait sur des cavités en rapport avec l'arbre bronchique, résultant de pneumopathies.

- *L'aspergillose bronchique allergisante :* on est en présence de malades, sujets depuis longtemps à des troubles de la ventilation ou du drainage bronchique, consécutifs à des bronchiectasies (47, 65).

- *Enfin, l'aspergillose pleurale :* il s'agit de patients ayant subi une intervention chirurgicale thoraco-pulmonaire et chez lesquels subsiste une fistule permettant ainsi une communication entre l'arbre bronchique et la cavité pleurale (41, 67).

Mais on ne peut nier tout à fait l'existence d'une aspergillose primitive (23) et il faut reconnaître que la densité aérienne en spores aspergillaires, l'exercice de certaines professions (104) peuvent jouer un rôle dans l'établissement d'une aspergillose. Nous n'en voulons

pour exemple que la notion anciennement acquise de l'existence de cette forme de la maladie chez les peigneurs de cheveux et les gaveurs de pigeons (45).

4. LES ANTECEDENTS ET L'AGE.

De toutes les études faites sur l'aspergillose pulmonaire, il ressort que la tuberculose est le plus grand pourvoyeur de cette maladie (3,35).

L'âge des malades se situe dans la plupart des cas au dessus de la trentaine sauf quelques exceptions (3,73).

Ces quelques lignes nous ont permis de situer l'aspergillose dans son cadre épidémiologique, dès lors, nous pouvons envisager le côté clinique.

II. APPROCHE CLINIQUE.

Sous ce terme d'approche clinique, nous n'avons nullement l'intention d'étudier de manière approfondie la question de l'aspergillose pulmonaire : là n'est pas le but de notre travail, et les Maîtres qui enseignent cette partie de la pathologie voudront bien ne pas nous tenir rigueur de faire un si rapide survol de leur domaine. Nous voulons seulement rappeler succinctement les caractères fondamentaux de chacune des formes cliniques de l'aspergillose et c'est dans le souci d'être clair que nous le faisons en un tableau commenté (tableau I).

	Aspergillose et aspergillomes intra-cavitaires broncho-pulmonaire	*Aspergillose pleurale*	*Aspergillose bronchique*
Antécédents	-tuberculose pulmonaire :60% des cas -sclérose pulmonaire -abcès du poumon -quelquefois,absence d'antécédents	-Après pyopneumothorax -Après intervention chirurgicale thoracique	- Asthme - Troubles de la ventilation
Circonstances de découverte et signes clin.	- Hémoptysie :86% des cas (crachats hémoptoïques (hémoptysies - Toux, douleurs thoraciques - Abaissement de l'E.G.	-Hémoptysies 5/11 -Liquide pleural hématiq. - Toux, douleur	- Dyspnée - Crises d'asthme - Episodes de bronchite
Signes radiologiques	- Image en grelot - Opacité arrondie simulant un foyer tuberculeux, une tumeur - Epaississement des parois d'une cavité	- Image d'épanchement pleural - Masse intra-pleurale	- Opacités hilaires ou systématisées
Signes biologiques	- Expectorations : examen important en cas de présence de mycélium et de têtes fructifères - Aspiration dirigée : idem - Mise en évidence dans le sérum de précipitines par méthode immunologique : élément fondamental du diagnostic	- Mise en évidence du champignon sur des prélèvements pleuraux. - Mise en évidence dans le sérum de précipitines par méthode immunologique	- Mise en évidence de l'A.F. dans les crachats = mycélium, têtes fructifères. -Mise en évidence dans le sérum de précipitines par méthode immunologique.
Evolution	- Evolution imprévisible - augmentation de volume de l'aspergillome - Risque hémoptoïque majeur	- Risque hémorragique - Envahissement des tissus de voisinage	- Accentuation de la symptomatologie

Tableau I

En se référant d'une part au mode de développement du champignon et d'autre part à sa localisation au niveau de l'appareil respiratoire, nous pouvons dénombrer 3 formes cliniques d'aspergillose.

1. *L'ASPERGILLOSE ET LES ASPERGILLOMES INTRA-CAVITAIRES BRONCHO-PULMONAIRES* :

L'aspergillose étant réalisée par le développement en nappe du champignon, l'aspergillome par son développement en masse.

2. *L'ASPERGILLOSE PLEURALE.*

3. *L'ASPERGILLOSE BRONCHIQUE.*

De l'examen de ce tableau, il ressort que :

- les greffes intra-cavitaires, pleurales et bronchiques de la maladie surviennent chez des sujets ayant un passé pneumologique. Néanmoins on ne peut rejeter tout à fait l'existence d'une aspergillose primitive (23).
- les signes cliniques de chaque forme d'aspergillose sont variés et souvent inconstants.
- les signes radiologiques sont déjà plus évocateurs, surtout si l'on considère l'image en grelot de l'aspergillome intravavitaire, malheureusement non constante.

Mais, de toute évidence, c'est la recherche des précipitines spécifiques dans le sérum des malades qui est le moyen le plus sûr de poser avec certitude le diagnostic d'aspergillose (51).

Chapitre II

LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE L'ASPERGILLOSE PULMONAIRE

Le bref rappel que nous venons de faire à propos de l'aspergillose pulmonaire nous a permis de constater que les manifestations cliniques et radiologiques de cette affection sont loin d'être constantes et spécifiques. Ainsi en est-il d'une part de l'hémoptysie qui est quelquefois absente du tableau clinique et d'autre part de l'image radiologique qui n'est guère explicite que pour un aspergillome typique. On saisit alors l'importance d'un diagnostic biologique précoce et précis de cette mycose viscérale.

Le diagnostic d'une telle affection peut s'effectuer de deux manières :

- soit directement par la mise en évidence microscopique de l'agent pathogène (*A. fumigatus*) dont on pratique ensuite la culture sur milieu adéquat.

- soit indirectement par des techniques immunologiques (sur lesquelles nous reviendrons plus tard) visant à rechercher la présence de précipitines sériques spécifiques élaborées par l'organisme imprégné des antigènes fongiques.

En ce qui concerne le diagnostic direct, c'est-à-dire mycologique, il est réalisé par l'examen des expectorations, des produits de broncho-aspirations dirigées et de leur culture sur milieux appropriés (milieu de Sabouraud glucosé au chloramphénicol et milieu de Czapek). La présence de spores d'*A. fumigatus* dans les expectorations ne revêt pas de signification précise en soi, étant donné le caractère ubiquitaire de l'agent pathogène.Mais l'existence à l'examen microscopique de filaments mycéliens, ou mieux, de têtes fructifères d'*A. fumigatus* dans les crachats d'une part, et dans les sécrétions prélevées sous bronchoscopie d'autre part, constitue une très forte présomption en faveur d'un diagnostic d'aspergillose (25), car on sait que la structure de l'appareil fructifère est spécifique des diverses espèces et permet au spécialiste d'assurer une identification précise.

Toutefois, la culture facile et rapide, sur milieu mycologique sera toujours nécessaire pour vérifier si l'aspergillus est vivant : en effet les aspergillomes meurent parfois spontanément, et en se désagrégeant libèrent des fragments de mycélium mort.

Enfin ces techniques directes nous exposent à des erreurs : selon DROUHET et SEGRETAIN (20, 25) les

prélèvements réalisés ne permettent d'isoler l'agent causal que dans un tiers des cas d'aspergillome ; trois faits l'expliquent :

1) Ou le mycétome n'est pas en communication avec l'arbre bronchique,

2) Ou la truffe aspergillaire ne donne pas de spores,

3) Ou l'aspergillome est mort.

En définitive, comme il est de règle en matière de diagnostic biologique, seuls les résultats positifs méritent d'être pris en considération. C'est surtout lorsque le diagnostic direct est en défaut que la méthode immunologique vient primordialement donner une confirmation.

Alors le diagnostic indirect est pratiqué non seulement grâce à la technique de double diffusion en gélose, mais encore et surtout grâce à une immuno-électrophorèse mettant en évidence des précipitines sériques spécifiques de l'aspergillose (25). De plus cette méthode a permis la découverte précoce d'aspergilloses latentes, confirmées par l'intervention chirurgicale (36).

I. HISTORIQUE ET APERCU DES TRAVAUX REALISES POUR L'ETUDE DU DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DE L'ASPERGILLOSE.

Longtemps la fragilité des antigènes et la difficulté de récolte de beaucoup d'entre eux ont été un

obstacle important pour la réalisation d'un diagnostic immunologique des parasitoses. Mais, l'extension des techniques de lyophilisation pour la conservation des antigènes, leur purification, la mise en pratique de l'immuno-diffusion en gélose (OUDIN) et de l'analyse immuno-électrophorétique qui révèle les différentes fractions bien individualisées de l'antigène, ont permis au diagnostic immunologique de faire des progrès certains.

En ce qui concerne la partie historique de ces recherches, cinq dates sont à retenir :

- *1928 :* la présence de précipitines sériques est décelée par PASTEUR VALLERY-RADOT et GIROUD (75) chez 3 malades atteints de la "sporomycose des pelleteurs de grains", en opposant à leur sérum un broyat de culture d'*A. fumigatus*. Mais la technique utilisée (précipitation en milieu liquide) et la rareté des cas rencontrés limitèrent les possibilités de réalisation d'un diagnostic précis. C'est pour cette raison que cette découverte resta dans l'ombre.

- *1946 :* OUDIN met au point la méthode de précipitation dans la gélose et ouvre ainsi d'intéressantes perspectives.

- *1955 :* SEELINGER utilise la technique d'OUCHTERLONY (double diffusion dans la gélose en boîtes de Pétri) pour l'étude de la structure antigénique de certains champignons pathogènes : *candida, cryptococcus, aspergillus*...

- *1959 :* PEPYS et coll. (76, 77, 79) à Londres, en appliquant les résultats des travaux précédents, mettent en évidence la présence de précipitines sériques chez des sujets dont l'expectoration, à l'examen microscopique contenait des spores et des filaments d'*aspergillus*.
- *1962 :* BIGUET et coll. (5 à 15, 32, 33, 34, 93, 94), par des immuno-électrophorèses réalisées contre un sérum de lapin hyperimmunisé, mettent en évidence 16 composants (18 depuis les dernières études) bien individualisés dans l'antigène d'*A. fumigatus*. Puis, par la même méthode, ils opposent le sérum de 4 malades atteints d'aspergillose à un extrait d'*A. fumigatus* et révèlent ainsi 5 à 7 arcs de précipitation (93, 94). A partir de ce résultat, la possibilité d'un diagnostic immunologique est envisagée.

Nous resterons volontairement brefs à propos des nombreux travaux de l'Ecole lilloise réalisés depuis 1962, notre tâche n'étant pas de les résumer. Nous nous bornerons à énumérer sous la forme d'un tableau (Tableau II) leurs résultats à propos de la spécificité des réactions immuno-électrophorétiques qui ont servi de point de départ à notre travail. D'ailleurs, une analyse approfondie de ces recherches est faite dans la thèse du docteur B. BASTIN (3) qui a eu l'honneur de travailler,un certain temps,les auteurs des travaux lillois.

Le tableau que nous présentons résume sommairement les résultats obtenus par BIGUET et coll. concernant la spécificité des réactions immunologiques en matière d'aspergillose.

Tableau n°II

Précipitations aspécifiques (12-15)	*Critères de spécificité (93-94)*
1. Réactions croisées : -existence de très peu de fractions communes à *A. fumigatus* et aux 24 autres espèces fongiques étudiées dont 12 A. -sauf : *A. fischeri* ..... *12* -les autres : 1 à 2 localisées en L ou D sur l'immunoélectrophorégramme. *2. Arcs de précipitation de protéine C et de la substance* X *Protéine C :* présente chez certains malades atteints d'affections à caractère infectieux ou inflammatoire sans spécificité. .pouvant induire de fausses réactions positives en présence d'antigène métabolique d'*A.fumigatus* .mais arc soluble dans une solution de citrate de soude à 5g%. *Substance X :* contenue dans certains extraits antigéniques d'*A.fumigatus* et déterminant avec les sérums P.-C. un arc de précipitation. .Arc : épais, a la forme d'une tache courbe, position médiane sur l'immuno-électrophorégramme	*1. Arcs majeurs* place des arcs sur l'immuno-électrophorègramme (d'après BIGUET) -*Fréquence :* C. 100 % J. 96 % M. 74 % F. 65 % *2. Critères enzymatiques :* - le complexe antigène-précipitine C porte une activité chymotrypsique. - le complexe antigène-précipitine J porte une activité catalasique.

II. REALISATION PRATIQUE DU DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE AU SEIN DE NOTRE LABORATOIRE.

La technique que nous allons décrire est issue des travaux de l'Ecole lilloise et a été introduite dans notre laboratoire par le docteur B. BASTIN. C'est cette méthode que nous avons utilisée pour la réalisation de nos recherches sérologiques.

Mais en avant-propos, nous tenons à rappeler le principe de la double diffusion en gélose, à savoir que : sérum et antigène diffusant en gélose, lorsqu'ils arrivent au contact l'un de l'autre, il se produit une précipitation (correspondant aux complexes antigène-anticorps) qui s'objective par des traits ou des arcs.

1. PREPARATION DES ANTIGENES.

Nous avons la possibilité d'utiliser 3 sortes d'antigène :

a) soit l'antigène cellulaire, obtenu à partir de broyat de mycélium d'*A. fumigatus*.

b) soit l'antigène métabolique, élaboré à partir du milieu de culture, dans lequel se sont accumulés les produits de métabolisme du champignon. Le milieu de culture est filtré, dialysé et lyophilisé.

c) soit l'antigène mixte, résultat du broyat du mycélium avec son milieu de culture.

Au laboratoire, nous nous servons de l'antigène métabolique ; ainsi nous évitons la manipulation excessive et éventuellement dangereuse de spores aspergillaires.

Pour ce faire, nous ensemençons sur 500 ml de milieu de Sabouraud liquide, placé dans un cristallisoir, une souche sélectionnée d'*A. fumigatus* (ces souches proviennent d'aspergillomes humains et sont entretenues avec soin par des repiquages fréquents). La culture sur ce milieu liquide se déroule à 25°C. Au bout de 2 mois,grâce à une évacuation placée à la base du cristallisoir, le bouillon de culture est soutiré et subit une première filtration sur papier filtre ordinaire. Suit une seconde filtration à l'aide d'un appareil Millipore (réf. YY 2209000, filtres Rawp 09000, pores de 1,2µ) qui est opérée dans le but de débarrasser le liquide des spores aspergillaires. Ensuite, le filtrat est dialysé, d'abord 24 heures sous eau courante, puis durant le même temps sous eau distillée (boyaux de dialyse Najax n°16). Enfin, le liquide résultant de ces traitements est réparti en bocaux à plasma de 150 ml et congelé en couches minces par un congélateur à rouleaux (procédé Rieutord Usifroid).

Le produit de cette congélation est lyophilisé et les bocaux scellés sous vide. Au moment de l'utilisation, l'antigène est repris dans l'eau distillée à raison de 0,5 ml de solvant pour 100 mg de poudre lyophilisée.

2. REALISATION DE LA REACTION DE DOUBLE DIFFUSION : TECHNIQUE D'OUCHTERLONY.

Sur des plaques en verre, bien dégraissées à l'alcool-éther, de format (5 x 11cm) 9,5 cc de gélose à 1,2 % fondue sont coulés. Une fois la gélose prise en masse, un réservoir central entouré de 6 petits puits est pratiqué à l'aide d'un emporte-pièce.

Le réservoir central recevra le sérum à étudier.

Les puits latéraux, eux, recevront les antigènes que l'on opposera au sérum (cf. schéma n°1).

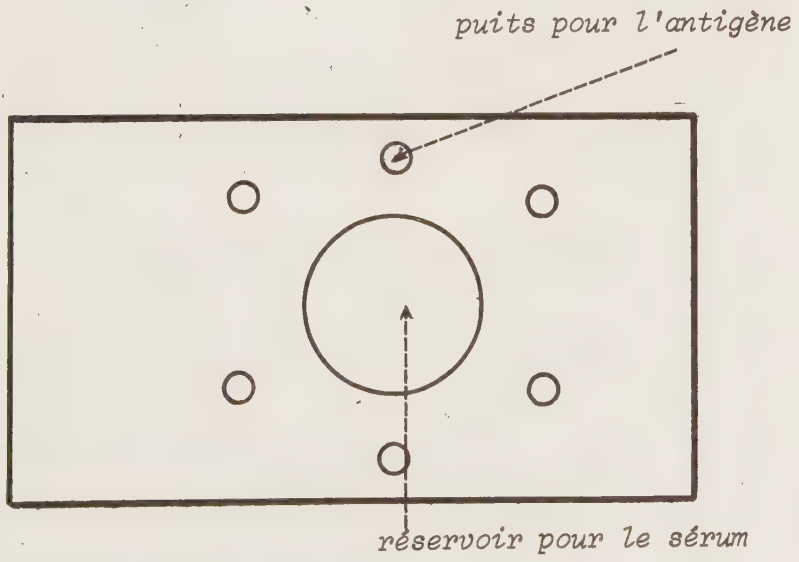

Schéma n° 1 - Diagramme d'Ouchterlony

Le sérum à examiner est au préalable concentré 2 fois par la lyophilisation de v cc de ce dernier, et la reprise du lyophilisat par $\frac{v}{2}$ cc d'eau distillée. Antigène et sérum concentré sont mis en contact et les plaques sont placées, tout d'abord pendant 24 heures, en atmosphère humide et à température ambiante pour la diffusion, puis à 4°C. durant le même temps pour la fixation. Les plaques sont ensuite lavées pendant 24 heures sous un lent courant de sérum physiologique tamponné à pH 8,2 (tampon véronal sodé à 50 g °/₀₀).Cette opération a pour effet d'éliminer la plus grande partie des éléments qui n'ont pas précipité, sérum - albumine en particulier, dont la présence gêne l'interprétation des résultats. Enfin, suit un passage des lames dans un bain de citrate de soude à 5 % durant 1h15 pour éliminer l'arc de la protéine C, avant un rinçage rapide et un séchage à l'aide de papier Whatman.

L'ensemble de ces opérations nécessite 5 jours.

3. REALISATION DE L'IMMUNO-ELECTROPHORESE.

Cette technique associe une électrophorèse de l'antigène, qui a pour but de séparer ses différentes fractions et une réaction de double diffusion. Ainsi la sensibilité de cette méthode se trouve accrue.

Cet examen se pratique sur une lame gélosée, sur laquelle, avec un emporte-pièce spécial, on découpe

un puits destiné à recevoir l'antigène et une gouttière pour le sérum (cf schéma n°2).

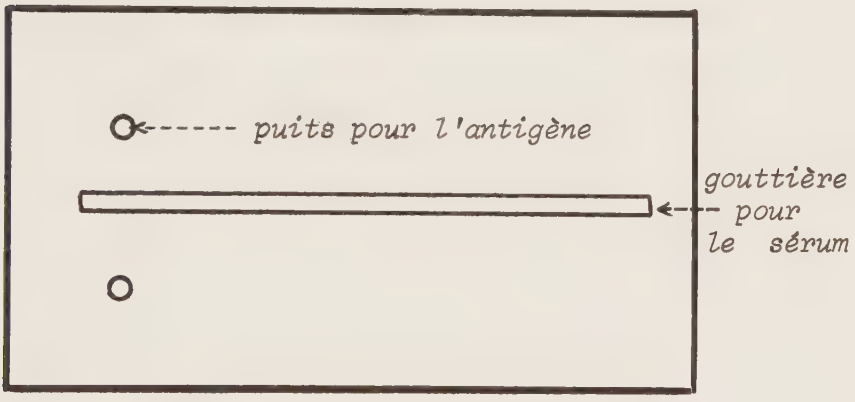

Schéma n° 2 - Immuno-électrophorégramme

L'électrophorèse de l'antigène a lieu avant la mise en contact de ce dernier avec le sérum.

Les conditions opératoires sont les suivantes :

- Tampon véronal sodé pH 8,2 dans le bac à électrophorèse,
- d.d.p. de 20 volts par lame,
- F.I. = 0,1,
- Migration de 5h30.

Une fois le sérum dans la gouttière,tout se passe comme dans la réaction d'Ouchterlony.

4. COLORATION DES LAMES.

La coloration a pour but de bien visualiser les arcs de précipitation. Elle s'opère avec une solution d'Amidoschwarz que nous laissons agir 2 à 3 minutes sur les lames sèches. Cette opération est suivie d'une décoloration du fond de la lame à l'acide acétique à 3 %. Ainsi, les arcs apparaissent nettement colorés en bleu et peuvent être dénombrés et analysés au négatoscope, et au besoin, à la loupe.

Chapitre III

NOTRE ENQUETE PERSONNELLE ET SES RESULTATS

Après en avoir terminé avec l'exposé de la technique du diagnostic immunologique qui nous a permis d'entreprendre cette étude, il nous est possible d'aborder notre enquête sérologique.

I. MODALITES DE LA REALISATION DE L'ENQUETE.

1. PROVENANCE DES SERUMS.

Les sérums que nous avons réunis proviennent tous de sujets en bonne santé et participant à la vie active. Cliniquement et radiologiquement il n'existe chez ces personnes aucune présomption d'affections pulmonaires. Les

fiches fournies par les services médicaux de la Caisse Régionale d'Assurance Maladie d'Aquitaine nous ont assuré de cet état de fait.

C'est dans le souci d'être précis que nous avons voulu travailler sur un nombre important de sérums (500), et que nous avons divisé la population choisie en tranches d'âge :

- hommes et femmes d'âge inférieur à 30 ans :..... 250
- hommes et femmes d'âge supérieur à 30 ans :..... 250
  dont 36,7 % d'âge supérieur à 50 ans.

Dans les deux lots de population, la répartition entre les hommes et les femmes est identique.

2. *METHODE DE TRAVAIL AU LABORATOIRE POUR L'ENQUETE SEROLOGIQUE.*

Un premier dépistage a été pratiqué par la méthode d'Ouchterlony et nous avons examiné ainsi 20 sérums par semaine, chiffre moyen. Une fois en possession du résultat de cette recherche, 2 éventualités s'ouvraient à nous:

- soit, le résultat en technique d'Ouchterlony était strictement négatif, sans aucun arc de précipitation, et alors nous portions la mention de diagnostic négatif sur des tableaux comportant le numéro du sérum, l'âge et le sexe du sujet examiné.

- soit la présence d'un ou de quelques arcs de précipitation était décelée et une immuno-électrophorèse s'avérait indispensable pour préciser le diagnostic. C'est ainsi que nous avons été amenés à pratiquer 28 examens immuno-électrophorétiques au cours de ce travail.

II. RESULTATS DE L'ENQUETE SEROLOGIQUE.

Afin de clarifier l'expression des résultats de notre enquête et d'en faciliter les commentaires, nous les avons résumés dans le tableau ci-dessous :

	Nbre de sérums étudiés	*Nbre de résultats douteux en Ouchterlony*	*Pourcentage des résultats douteux en Ouchterlony*	*Nbre de résultats positifs en immuno-électroph.*
Tranche d'âge <30 ans	250	13 (12-1 arc ; 1-2arcs)	5,2 %	aucun
Tranche d'âge >30 ans	250	15 (14-1 arc ; 1-2 arcs)	6 %	aucun
TOTAL	500	28	5,6 %	aucun

III. COMMENTAIRES ET CONCLUSIONS.

De l'analyse des résultats précédents il ressort un élément capital : jamais au cours de nos recherches un examen immunologique ne s'est révélé définitivement positif car les rares réactions d'Ouchterlony douteuses (5,6%) ont toutes été infirmées par l'examen immuno-électrophorétique qui a suivi. D'ailleurs les 28 arcs reconnus en technique d'Ouchterlony étaient très faibles et souvent seul un examen à la loupe nous a permis de les déceler.

Antérieurement quelques enquêtes systématiques ont été menées, mais à notre connaissance sur des populations porteuses de lésions pulmonaires. C'est ainsi que VIDAL et RIOUX (97) de Montpellier effectuèrent en 1968, comme nous le mentionnons dans notre introduction, une étude sérologique visant à déterminer le pourcentage d'aspergillose latente chez des sujets atteints de tuberculose évolutive. Pour ce faire ils soumirent parallèlement, à l'analyse immunologique, 100 sérums de tuberculeux évolutifs et 100 sérums de sujets porteurs d'affections pulmonaires non tuberculeuses (73 cas de silicose et 27 cas de broncho-pneumopathies chroniques), ceci dans l'intention d'établir une comparaison entre les résultats des 2 groupes. Leur mode opératoire fut celui que nous avons nous-mêmes adopté lors de notre recherche. C'est ainsi que, dans un premier temps ils utilisèrent systématiquement la technique d'Ouchterlony pour déceler la présence éventuelle

d'anticorps précipitants, et dans un second temps, l'immuno-électrophorèse uniquement dans les cas où les résultats du premier dépistage s'étaient avérés douteux. Le tableau qui suit résume les résultats obtenus par ces auteurs.

	Nbre de résultats douteux en Ouchterlony	*Nombre de résultats positifs en immuno électrophorèse*
100 sérums de tuberculeux	35	4
100 sérums de broncho-pneumopathiques chroniques	20	aucun

Résultats des études de VIDAL et RIOUX (97).

En ce qui nous concerne, nous avons travaillé pour établir notre base de référence sur un nombre important de sérums (500), provenant de sujets cliniquement et radiologiquement indemnes d'affections pulmonaires : c'est là que réside l'originalité de notre travail.

Parmi nos propres résultats, 5,6 % seulement des réactions d'Ouchterlony ont été douteuses, alors que le pourcentage s'élevait à 20 % chez des broncho-pneumopatiques chroniques et à 35 % chez des tuberculeux évolutifs

dans l'enquête précitée. Notre travail va donc dans le sens des résultats obtenus à Montpellier, en élargissant le domaine de prospection à la population saine.

Etant donné qu'au cours de notre travail l'immuno-électrophorèse a été constamment négative, ces commentaires appellent un corollaire riche en enseignements:

Il n'existe pas de contact immunisant entre A. fumigatus et un organisme sain.

Ceci s'explique par le fait que les sujets sains possèdent l'intégrité des moyens de défense de leur appareil broncho-alvéolaire. En conséquence, en dépit de l'abondance des spores d'*A. fumigatus* dans le milieu extérieur la greffe aspergillaire,et par là-même le développement du mycélium,ne peut s'opérer qu'à la faveur ou bien d'une lésion de l'arbre bronchique, si minime soit-elle, ou bien d'un fléchissement des défenses locales (47).

Ces constatations nous permettent d'établir une distinction précise entre deux notions en matière d'aspergillose pulmonaire :

- *1) l'aspergillose - infestation :*

C'est le processus le plus banal qui soit; tous les humains y sont constamment exposés par l'inhalation de spores. Mais ce phénomène reste sans conséquences tant que demeure dans son état physiologique le tractus broncho-pulmonaire.

- *2) l'aspergillose - maladie :*

La germination de spores d'*A. fumigatus* est facilitée par des conditions particulières du terrain telles que : inhibition de la phagocytose, troubles de la ventilation, existence de cavernes tuberculeuses détergées par une antibiothérapie, dilatation bronchique,etc... Cette forme, elle, se traduit par une réaction immunologique positive, étant donné les contacts étroits existant entre l'agent pathogène et l'organisme parasité.

En terminant, nous formulons le souhait que notre étude pourra servir de base de référence pour l'interprétation des examens immunologiques en matière d'aspergillose pulmonaire. En effet, chaque fois que le sérum d'un patient présentera un ou plusieurs arcs spécifiques de précipitation en immuno-électrophorèse (en particulier l'arc C) le laboratoire sera en mesure de répondre qu'il existe un contact immunisant entre l'organisme du malade et *A. fumigatus*, et il pourra ainsi orienter le clinicien vers le diagnostic d'une aspergillose - maladie.

R E S U M E

Après avoir fait dans un premier chapitre quelques brefs rappels concernant l'étiologie, l'épidémiologie et les données cliniques de l'aspergillose pulmonaire, nous avons envisagé dans un second chapitre le diagnostic immunologique de cette affection dans son principe et les modalités de sa réalisation au sein de notre laboratoire, à la lumière des travaux de l'Ecole lilloise.

Le troisième chapitre est consacré à notre enquête sérologique personnelle, effectuée sur 500 sérums de sujets considérés comme cliniquement et radiologiquement indemnes de toute affection pulmonaire.

Nous avons opéré un premier dépistage grâce à la technique d'Ouchterlony de double diffusion en gélose ; nous le faisions suivre d'une immuno-électrophorèse lorsque ce premier examen s'était avéré douteux.

Le point essentiel, c'est que tout au long de notre étude, tous les examens immuno-électrophorétiques ont été négatifs; et ceci nous a permis de conclure qu'il n'existe aucun contact immunisant entre *A. fumigatus* et un organisme sain, et d'établir une distinction nette entre l'aspergillose-infestation et l'aspergillose-maladie.

Enfin, et surtout, ce travail est susceptible d'apporter une base de référence pour une meilleure et plus précise interprétation du diagnostic immunologique de l'aspergillose pulmonaire.

SERMENT

En présence des maîtres de cette École, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins je les instruirai et les soignerai sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu,
Le Président de l'Université de Bordeaux II :
H. BRICAUD

Vu, bon à imprimer,
Le Président de Thèse :
R. MANDOUL

Vu et permis d'imprimer,
Bordeaux, le 19 Septembre 1972
Le Chancelier des Universités :
PAULIAN

B I B L I O G R A P H I E (*)

---

1. AUTRAN P. - Aspergillus en pathologie broncho-pulmonaire. Medicorama, 1970, n°91.

2. AZUMA I. et coll. - Skin-testing and precipitation antigens from *Aspergillus fumigatus* for diagnosis of aspergillosis. Am. Rev. Resp. Dis., fév.1967, 95, n°2, 305-306.

3. BASTIN B. - L'aspergillose broncho-pulmonaire en Aquitaine. Thèse méd. Bordeaux, 1971, n°146.

(*) N.B. Cette bibliographie ne prétend pas être exhaustive ; seuls figurent ici les ouvrages nous ayant permis de mieux comprendre notre sujet et de réaliser ce travail. Pour approfondir tel ou tel point particulier, il est possible de se rapporter aux bibliographies souvent abondantes de ces mêmes ouvrages.

4. BALGAIRIES E., VOISIN C., JACOB M. et LEDUC M. - Le diagnositic clinique, radiologique et anatomo-pathologique des aspergillomes pulmonaires. Soc. de path. thoracique du Nord, séance du 6 mai 1962, Poumon et Coeur, 1963, 19, 102.

5. BIGUET J. - Intérêt et limites du diagnostic des mycoses par la précipitation dans la gélose. Bull. Soc. fr. Mycol. méd., 1968, 14, 25.

6. BIGUET J. - Analyse immuno-électrophorétique et standardisation des antigènes fongiques (ou plus généralement parasitaires), solubles. Bull. Soc. Fr. Mycol. méd., 1964, 8, 5.

7. BIGUET J., CAPRON A. - Diagnostic immunologique des parasitoses humaines . Rev. du Prat., 1966, XVI, 29 bis, 867.

8. BIGUET J., CAPRON A. et TRAN VAN KY P. - Le diagnostic immunologique des parasitoses humaines. Lille méd., 1967, 12, 1, 43-52.

9. BIGUET J., CAPRON A. et TRAN VAN KY P. - Diagnostic mycologique et immunologique des aspergillomes pulmonaires. Poumon et Coeur, 1963, I, 102-103.

10. BIGUET J., CAPRON A. et TRAN VAN KY P. - Le diagnostic immunologique des parasitoses. Lille méd., 1968, 13, 5, 547-552.

11. BIGUET J., CAPRON A., TRAN VAN KY P. et ANDRIEU S.- Le diagnostic des mycoses et des helminthiases par les précipitations en gélose. Aspects actuels et discussion critique.
Poumon et Coeur, 1968, XXIV, 295-305.

12. BIGUET J., CAPRON A., TRAN VAN KY P. et ROSE F. - Présence de substances de type C dans les antigènes vermineux et de protéine anti C au cours des helminthiases humaines ou expérimentales.
Rev. immunol., Paris, 1965, 29, 233-240.

13. BIGUET J., FRUIT J. et VERNES A. - La réaction de fixation du complément et l'immuno-électrophorèse appliquées au diagnostic immunologique de l'aspergillose pulmonaire.
Bull. Soc. fr. Mycol. méd., 1970, 18, 34-35.

14. BIGUET J., HAVEZ R. et TRAN VAN KY P. - Les possibilités d'application aux champignons pathogènes de la méthode d'Ouchterlony et de l'immuno-électrophorèse.
C.R. Acad. Sci. 1959, 249, 895-897.

15. BIGUET J., TRAN VAN KY P., CAPRON A., FRUIT J. - Analyse immuno-chimique des fractions antigéniques solubles d'*A. fumigatus*. Ordre d'apparition des anticorps expérimentaux du lapin ; comparaison de ces derniers avec les anticorps naturels humains.
C.R. Académ. Sci., 1962, 254, 3768-3770

16. BROCARD H., GALLOUEDEC Ch., AKOUN G. - Les mycoses pulmonaires.
Rev. du prat., 1968, XVIII, 19, 2939-2948.

17. BRONNESTAM R. and HALLBERG T. - Precipitins against an antigen extract of *A. fumigatus* in patients with aspergillosis or other pulmonary diseases.
Acta med. Scand., 1965, 177, 385.

18. CAMPBELL M.J., and CLAYTON Y.M. - Bronchopulmonary aspergillosis.
Am. Rev. Resp. Dis. 1964, 89, 189-196.

19. CHARPIN J. - Allergie aux moisissures atmosphériques. Introduction.
Poumon et Coeur, 1965, 21, 5-6.

20. CHARPIN J., OHRESSER P., BOUTIN C., GRANDGAUD P., CHARPIN H. et RENARD M. - Etude lors d'une série de bronchoscopies de la flore fongique des bronches.
Rev. Tub. Paris, 1964, 28, 433-438.

21. COUDERT J., DESPEIGNES J. et BATTESTI M.R. - Résultats d'une enquête sérologique relative à l'aspergillose. Confrontations avec les examens mycologiques et les données cliniques.
Lyon méd., 25 déc. 1966, 52, 1573-1580.

22. COURY Ch., SALTIEL J.C. - Accidents pulmonaires liés aux traitements par les immuno-dépresseurs.
Rev. du prat., 1972, XXII, 3 (21 janv. 72).

23. DEVE F. - Une nouvelle forme anatomo-radiologique de tumeur pulmonaire primitive, le mégamycétome intrabronchique.
Arch. méd. chir. appar.resp.,1938,13, 337-361.

24. DROUHET E. - Biologie générale et physiopathologie des mycoses.
Rev. du Prat.,1968, XVIII, 19, 2823-2840.

25. DROUHET E., SEGRETAIN G. et MARIAT F. - Diagnostic de laboratoire des mycoses. Améliorations récentes des méthodes de diagnostic mycologique et immunologique.
Rev. du Prat.,1968, XVIII, 19, 2863-2898.

26. DROUHET E., SEGRETAIN G., PESLE G. et BIDET L. - Valeur de la recherche des précipitines sériques en milieu gélifié pour le diagnostic des aspergilloses broncho-pulmonaires.
Annales de l'Institut Pasteur, 1963, 105, 597-604.
et J. fr. Med. Chir. Thor.,1963, 17, 655-661.

27. DRUTEL P. - A propos des troubles de la fonction respiratoire dans les aspergilloses pulmonaires.
J. .fr. méd. Chir. Thor., 1961, 15, 595.

28. ENGLISH M.P., HENDERSON A.H. - Signifiance and interpretation of laboratory tests in pulmonary aspergillosis.
J. clin. path., 1967, 20, 832-834.

29. ENJALBERT L. - Le diagnostic des mycoses pulmonaires.
Toulouse méd., 1959, 531-538.

30. FREOUR P., LAUMONIER P., CARRE J.C., POTAUX L. et MORVAN A. - Sur un volumineux aspergillome intra pleural.
J. Fr. méd. chir. Thor., 1963, 17, 4, 419-425.

31. GERNEZ-RIEUX C., BIGUET J., CAPRON A., VOISIN C. et ANDRIEU S. - Etude de la flore mycologique des bronches par examen des sécrétions bronchiques prélevées sous bronchoscopie chez 1.120 malades de 1956 à 1964.
Rev. Tub., 1964, 28, 439-444.

32. GERNEZ-RIEUX C., BIGUET J., VOISIN C., CAPRON A., BALGAIRIES H. et TRAN VAN KY P. - Diagnostic sérologique des aspergillomes broncho-pulmonaires par immuno-électrophorèse.
J. fr. med. Chir. Thor., 1963, 17, 663-676.

33. GERNEZ-RIEUX C., BIGUET J., VOISIN C., CAPRON A. et TRAN VAN KY P. - Diagnostic immunologique des aspergillomes broncho-pulmonaires ; mise en évidence d'anticorps sériques spécifiques par immuno-électrophorèse.
Presse méd., 1963, 71, 31, 1541-1543.

34. GERNEZ-RIEUX C., BIGUET J., VOISIN C. et WATTEL F. - Apport des techniques de diagnostic immunologique à la connaissance de l'aspergillose broncho-pulmonaire et pleurale.
Poumon et Coeur, 1968, 24, 3, 307-317.

35. GERNEZ-RIEUX C., VOISIN C., AERTS C., WATTEL F., GOSSELIN B., WALLAERT C. - Problèmes actuels de l'aspergillose respiratoire.
Bull. Soc. med. Hôp. Paris, 1968, 119, 773-784.

36. GERNEZ-RIEUX C., VOISIN C., WATTEL F. et LEMORT J. - Les formes latentes ou méconnues de l'aspergillose broncho-pulmonaire.
Rev. du Prat., 1965, 15, 293-298.

37. GERSTL B., WEIDMAN W.H. et NEWMAN A.V. - Pulmonary aspergillosis ; report of two cases.
Ann. Int. Med., 1948, 28, 3, 662-671.

38. GUENON A., ROUSSELOT J. et BEZARD J. - Un cas d'aspergillome chez un tuberculeux pulmonaire.
Rev. tub., 1959, 23, 449-453.

39. HERTZOG P. - Considération sur l'aspergillose pulmonaire.
Bull. Soc. fr. mycol. med., 1961, 3, 3.

40. HINSON K.W., MOON A.J., PLUMMER N.S. - Broncho-pulmonary aspergillosis : a review and report of eight new cases.
Thorax, 1952, 7, 317-333.

41. JOULLIE M. - Aspergillose pleurale ; à propos de 10 observations.
Thèse med. Bordeaux, 1971, n°204.

42. KERBRAT G. - Les mycoses broncho-pulmonaires.
Rev. du prat., 1953, III, 4, 205-207.

43. LABADIE P. - L'immuno-électrophorèse ; son principe, ses résultats.
Rev. du Prat., 1960, 10, 32, 3535-3544.

44. LAGEZE P., BERARD M., GALY P. et TOURAINE R. - Le mégamycétome pulmonaire ou aspergillome intra-cavitaire (à propos de 3 cas).
J. Fr. med. chir. thor.,1953, 6, 648-662.

45. LAHOURCADE M. - L'aspergillose viscérale. Revue générale à propos d'un cas.
Thèse med. Bordeaux, 1958.

46. LAHOURCADE M. - L'aspergillome pulmonaire. Pathologie et pathogénie.
Path. Biol.,1961, 9, 1-2, 17-37.

47. LAHOURCADE M. - conception nouvelle de l'aspergillose humaine.
1) Les aspergilloses superficielles en nappe : l'aspergillose muco-membraneuse.
2° Les aspergilloses superficielles en masse : l'aspergillome.
Path. Biol., 1962, 10, 21-24, 1661-1680.

48. LAMY P., ANTHOINE D., VAILLANT G., MONNEAU J.P., FROMENT J., NEIMANN J.L. - Les aspergilloses broncho-pulmonaires.
Soc. Med. Nancy, séance du 9 décembre 1970.

49. LAROCHE Cl., GRIVAUX M., ETIENNE J.P., DELAVIERRE Ph., CAQUET R., PATTE D. - Hémopathies malignes compliquées de mycoses.
Sem. des Hôp.,47°année,14.4.71,18,1205-1207.

50. LAUTIER P. - Les mycoses pulmonaires.
Rev. du Prat., 1956, VI, 3, 289.

51. LEDOUX A., NOIR J., ROZENBAUM A., GAILLARD E., KASMIERZAK A. - Place de l'aspergillose dans un service hospitalier de pneumologie. Résultats d'une enquête systématique.
Soc. Med. Hôpitaux de Lyon, séance commune avec la Soc. med. des Hôpitaux de Besançon, 6.10.70.

52. LEGRAND M. - L'aspergillome pulmonaire.
Concours méd., 1971, I, 55-58.

53. LE TACON J. et TRIBOULET F. - Aspergillome pleural.
Bull. Soc. med. Hauteville, 1963, 53-55.

54. LOCHARD J., FRANQUET R., BRIQUEL P. - Remarques concernant l'aspergillome bronchectasiant.
Bull. Soc. Fr. mycol. med.,1963, 5, 14.

55. LONGBOTTOM J.L. - Antigènes d'*Aspergillus fumigatus*.
Bull. Soc. Fr. Mycol. med.,1964, 8, 6.

56. LONGBOTTOM J.L. and PEPYS J. - Pulmonary aspergillosis , diagnosis and immunological signifiance of antigens and C. substance in *Aspergillus fumigatus*.
J. Path. Bact., 1964, 88, 141-158.

57. LONGBOTTOM J.L. and PEPYS J. - Comparison of antigens and allergens in *Aspergillus fumigatus* and *Epidermophyton floccosum*.
Acta allerg., 1962, 17, 188-194.

58. LONGBOTTOM J.L., PEPYS J., TEMPLE CLIVE F. - Diagnostic precipitine test in Aspergillus pulmonary mycetoma.
Lancet, 1964, I, 588-589.

59. LUIZY J. - Les aspergilloses pulmonaires.
Ann. méd. Reims, 1964, I, 191-200.

60. MARTIN-LALANDE J. - Aspergillose et tuberculose pulmonaire associées (contribution à l'étude des modalités de coexistence).
Rev. Tub., 1961, 25, 1235-1259.

61. MARTIN-LALANDE J., CARRAUD J., DJEBBAR A. et JAUBERTE R. Aspergillose et suppuration : épisode pyogène suraigu intra-cavitaire après dégénérescence et mort aspergillaire "in situ".
J. Fr. Med. Chir. Thor., 1964, 18, 579-590.

62. MEARNS M., YOUNG W., BATTEN J. - Transient pulmonary infiltrations in cystic fibrosis due to allergic aspergillosis.
Thorax, 1965, 20, 385-392.

63. MEYER A., MONOD O., PESLE G., ROY L., ZIVY P. et KUENTZ J. - L'aspergillome bronchique (trois nouvelles observations).
Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris, 1956, 19-20, 554-570.

64. MEYER A. et RAPPAUD G. - Atélectasie pulmonaire par aspergillose bronchique obstructive.
J. Fr. Med. Chir. Thor., 1962, 16, 757-768.

65. MEYRAN M. - Aspergillose broncho-pulmonaire allergique (à propos de 4 cas).
Thèse méd. Bordeaux, 1970, n°185.

66. MONOD O. - A propos des aspergillomes.
J. Fr. Med. Chir. Thor., 1961, 15, 529-532.

67. MONOD O. - Aspergillomes pulmonaires et pleuraux.
Mem. Acad. Chir. 1969, 30, 837-842.

68. MONOD O., DIEUDONNE P. et TARDIEU P. - Les aspergilloses pulmonaires post -opératoires.
J. Fr. Méd. Chir. Thor., 1964, 18, 579-590.

69. MONOD O., PESLE G.D. et LABEGUERIE. - L'aspergillome bronchectasiant.
J. Fr. Med. Chir. Thor., 1952, 6, 229-244.

70. MONOD O., PESLE G. et SEGRETAIN G. - L'aspergillome bronchectasiant.
Presse méd., 1951, 59, 1557-1559.

71. MORETTI G., DELORME G., STAEFFEN J., LORRAIN J., ROUX M., DANGOUMAU J. - Volumineux aspergillome intrabronchique.
J. Med. Bordeaux, 1961, 138, 242-247.

72. NEGRONI R. et FLORES C.I. - Les antigènes d'*Aspergillus fumigatus* pour les réactions sérologiques.
Prensa med. argent., 19-26, déc.1969, 56,n°42-43, 1849-1854.

73. NEIMANN N., MANCIAUX M., VERT P., PERCEBOIS G., DURUP DE BALEINE D. et RACHMUT H. Aspergillose nodulaire du poumon chez une fillette de 2 ans. Bull. Soc. Fr. Mycol. Med., 1965, 9, 12, Arch. Fr. Péd., 1965.

74. OUCHTERLONY O. - Antigen-Antibody reactions in gels Ark. Kemi, 1948, 26, 14, 1-9.

75. PASTEUR VALLERY-RADOT et GIROUD F. - Sporomycose des Pelleteurs de grains. Bull. Soc. Med. Paris, 1928, 52, 1632-1645.

76. PEPYS J. - Hypersensitivity diseases of the lungs due to fungi and organic dusts. Monographs in Allergy. S. Karger Ed. Basel,1969.

77. PEPYS J. - Recherches sérologiques dans l'aspergillose. Bull. Soc. Fr. Mycol. med., 1961, 3, 5.

78. PEPYS J., LONGBOTTOM J.L. and JENKINS P.A. - Les pneumoconioses par poussières végétales. Etude des antigènes extraits de poussières végétales. Etude comparative du poumon de fermier et de l'aspergillose pulmonaire. Lille méd., 1964, 9, 93-101.

79. PEPYS J., RIDDEL R.W., CITRON K.M., CLAYTON Y.M. and SHORT E.I. - Clinical and immunological signifiance of *Aspergillus fumigatus* in the sputum. Am. Rev. resp. Dis. 1959, 80, 167-180.

80. PESLE G.D. - Evolution de l'aspergillome bronchectasiant : à propos de 4 cas.
Presse méd., 1956, 64, 68, 1563-1566.

81. RENAUT P. - La surinfection aspergillaire chez les tuberculeux pulmonaires traités (colloque).
Rev. Tub., 1965, 29, 699-720.

82. RIOUX J.A. et PAGES A. - Sur un cas d'aspergillome pulmonaire (confrontation anatomo-clinique).
Bull. Soc. Fr. mycol. med., 1961, 2, 8.

83. ROUBINET, LAUMONIER P., FREOUR P., COURAUD L. - Aspergillome bronchectasiant ou mycose d'une cavité préexistante.
Toulouse méd., 1959, 539-549.

84. SAPOJNIKOFF S. - Les mycoses pseudo-tumorales. A propos de 19 cas.
Thèse méd. Bordeaux, 1965.

85. SEABRA O., TAVARES FRANCA A. et PRADEZ DE FARIA G. - Présence d'anticorps contre l'*Aspergillus fumigatus* dans le sérum de malades avec manifestations allergiques de l'appareil respiratoire.
Hospital, juil.1965, 68, n°I, 89-93.

86. SIDRANSKY H. and FRIEDMAN L. - The effects of cortisone and antibiotic agents on experimental aspergillosis.
Am. J. Path., 1959, 35, 169.

87. SIDRANSKY H., VERNEY E. and BEEDE H. - Expérimental pulmonary aspergillosis.
Arch. Path. (Chigaco), 1965, 79, 299-309.

88. SOLTYS M.A. - Antibiotic action of *Aspergillus fumigatus* against mycobacterium tuberculosis.
Nature, 1944, 154, 550-551.

89. STALLY BRASS F.C. - Test en précipitines dans l'aspergillose humaine généralisée.
Mycopathologia, 1963, 21, 272-278.

90. TARDIEU P., DIEUDONNE P., MONOD O., ATCHOARENA J.B. - Aspergillomes pleuraux.
J. Fr. med. chir. thor., 1964, 18, 591-596.

91. TESSIER R., LAUMONIER P., MARTRE P., COURAUD L., Mme BEYLOT, FONTANGES P., avec la collaboration de LAHOURCADE M. - Images d'aspergillomes.
J. Med., Bordeaux, 1964, 2, 209-216.

92. TESSIER R., LAUMONIER P., COURTY G., MARTRE P.,VOISIN P., PHILIPPE R. - Aspergillome développé au sein d'un épithéliome bronchique à forme pseudo-kystique.
J. Fr. med.Chir.Thor., 1968, 22, 615-621.

93. TRAN VAN KY P., BIGUET J., FRUIT J. - Localisation et fréquence des arcs des immuno-électrophorégrammes produits par le sérum des malades atteints de mycétomes aspergillaires, appliqué contre l'antigène *A. fumigatus*.
Rev. Immuno.,1966, 30, 1-2, 13-20.

94. TRAN VAN KY P., BIGUET J., HAVEZ R. et LEYS J.C. - Localisation comparée des précipitines anti *A. fumigatus* dans les globulines immunes du sérum des lapins hyperimmunisés et des malades atteints d'aspergillome pulmonaire.
Ann. Institut Pasteur, 1966, 110, 86-98.

95. TRAN VAN KY P., BIGUET J., VAUCELLE T. - Etude d'une fraction antigénique d'*A. fumigatus*, support d'une activité catalasique. Conséquence sur le diagnostic immunologique de l'aspergillose.
Rev. immuno., 1968, 32, 1-2, 37-52.

96. TRAN VAN KY P., URIEL et ROSE F. - Caractérisation de types d'activités enzymatiques dans les extraits antigéniques d'*A. fumigatus* après électrophorèse et immuno-électrophorèse en agarose.
Ann. Institut Pasteur, 1966, III, 162-170.

97. VIDAL J., RIOUX J.A., MICHEL F.B., LANOTTE G., GAL J. et CORRE R. - Pourcentage d'aspergilloses latentes chez les sujets atteints de tuberculose pulmonaire.
J. med. Montpellier 1968, 3, 416-420.

98. VOISIN C., BIGUET J., TRAN VAN KY O., JACOB M. et LEFEBRE J. - Aspects allergologiques et immunologiques d'actualité des mycoses broncho-pulmonaires.
Lille méd., 1966, II, 822-831.

99. VOISIN C., BIGUET J., TRAN VA N KY P., SCHOULLER A. SERGEANT Y.H., GERNEZ-RIEUX C. - Aspergilloses latentes et tuberculose pulmonaire chronique. Intérêt de la recherche systématique des précipitines sériques spécifiques chez les tuberculeux cavitaires au long cours.
Rev. Tub., 1964, 28, 1311-1317.

100. WALTER J.E., JONES P.H., JONES R.D.- Serologic tests in diagnosis of Aspergillosis.
Diseases of the chest. 1968, 53, 6, 729-735.

101. WARREN W.P. et ROSE B. - Aspergillose par hypersensibilité broncho-pulmonaire.
Dis. Chest., 55, 415, 1969.

102. WEILL C.P. - Contribution au diagnostic sérologique des aspergilloses .
Thèse méd. Paris, 1964.

103. WEILL C.P., PESLE G.D., MEHL P. - Diagnostic des affections à *Aspergillus* par déviation du complément.
Ann. Biol. Clin.,1969, 27, 1-2, 87-91.

104. WERNER A. - Occupational bronchial asthma in a baker due to *Aspergillus*.
Ann. of Allergy, 1960, 18, 1004-1007.

105. YOUNG R.C., BENNETT J.E., VOGEL C.L., CARBONNE P.P. et DEVITA V.T.- L'aspergillose.
Medicine, mars 1970, 49, 2, 147-173.

Editions BERGERET, 2, rue Bergeret, BORDEAUX, tel.91.12.59.